

Биолог. журн. Армении, 3-4 (58), 2006

УДК 579.64:631.46

KLEBSIELLA ԾԵՂԻ ՆՈՐ ԴԻԱԶՈՏՐՈՖ ԲԱԿՏԵՐԻՍՆԵՐԸ ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀՈՂԵՐՈՒՄ ԵՎ ՋՐԵՐՈՒՄ

Վ.Գ. ՆԻԿՈՂՈՍՅԱՆ

ՀՀ ԳԱԱ Միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ, 2201, ք. Արմավյան

Morphological, physiological and biochemical features of a new diazotroph of *Klebsiella* Genus growing in waters and root systems of different plants with high nitrogen-fixing activity have been presented.

Klebsiella - համակեցություն - ազոտֆիքսացիա - արմատային զոնա

Մեր կողմից նախկինում ուսումնասիրվել էր զարու արմատային զոնայից մեկուսացված *Klebsiella* ցեղին պատկանող վեց կուլտուրաների տեսակային կազմն ու ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը [4]: Սակայն հացազգիների և թիթեռնածաղկավոր բույսերի ասոցիատիվ դիազոտրոֆների, ինչպես նաև Սևանի ավազանի ջրերի ուսումնասիրությունների ընթացքում, հետազայում մեզ հաջողվեց մեկուսացնել պատիժ (կապսուլա) առաջացնող *Klebsiella* ցեղին պատկանող ևս չորս կուլտուրաներ, որոնք իրենց մորֆոֆիզիոլոգիական հատկանիշներով զգալիորեն տարբերվել են մինչ այժմ հայտնի *Klebsiella* ցեղի ազոտֆիքսատորներից [5, 7]: Առանձնապես ուշագրավ է, որ ներկայացված *Klebsiella* ցեղի այդ դիազոտրոֆը տարածված է ինչպես Արարատյան դաշտավայրում մշակվող տարբեր բույսերի արմատային զոնայում այլ դիազոտրոֆների հետ համակեցության պայմաններում, այնպես էլ Սևանի ավազանի ջրերում և, ամենակարևորը, օժտված է ազոտի ֆիքսման մեծ ակտիվությամբ:

Սույն հաղորդումը նվիրված է այդ բակտերիայի մորֆոֆիզիոլոգիական ու քիմիական հիմնական առանձնահատկությունների ուսումնասիրությանը:

Նյութ և մեթոդ: Ուսումնասիրությունների նյութ 1 հանդիսացել Հայաստանի տարբեր վայրերում մշակվող հացազգիների և թիթեռնածաղկավոր բույսերի արմատային զոնայից, հողերից, ինչպես նաև Սևանա լճից և նրա մեջ թափվող գետերի ջրերից մեկուսացված շուրջ 220 ազոտֆիքսող մանրէների համակեցությունները (ՍՄՀ): Փորձարկվել են նաև ՀՀ ԳԱԱ Սանրենների Ավանդադրման Հանրապետական Կենտրոնում (ՍՄՀԿ) սլաիպանվող *Azotobacter chroococcum* H.H.M.H.A. B-6111 շտամն ու մեր կողմից նախկինում ստացված *A. chroococcum*-ի ստրեպտոմիցինադիմացկուն (C-6) և տետրացիկլինադիմացկուն (T-25) մուտանտները:

Փորձերի ընթացքում օգտագործվել են էշբիի, Վինոգրադսկու, Չապեկի և ՄՊԱ սննդամիջավայրերը:

Կուլտուրաների իդենտիֆիկացիայի համար Բերգեի [5, 7] որոշիչներից բացի օգտագործվել են նաև այլ հեղինակների աշխատանքները [2, 5]: Ազոտի ֆիքսման ակտիվությունը

վիճողարդյակու հեղուկ սննդամիջավայրում որոշվել է ացետիլենային եղանակով [8], որի մեթոդական մասը մեր կողմից ներկայացվել է նախկինում [3]:

Ստացված տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման [6]:

Արդյունքներ և քննարկում: Փորձարկված բազմաթիվ ԱՄՀ-ների ուսումնասիրություններից պարզվեց, որ *Klebsiella* ցեղին պատկանող Նոր դիագնոստիկ (բնորոշ կուլտուրան - *Klebsiella sp.* 56) հայտնաբերվել է չորս տարբեր նմուշներում, որոնց զարգացման սուբստրատն ըստ մեկուսացման վայրերի ներկայացված է աղ. 1-ում:

Աղյուսակ 1. *Klebsiella* ցեղի դիագնոստիկ ըստ մեկուսացման վայրերի

Վայրեր	Բարձրությունը ծովի մակերևույթից, մ	Կուլտուրայի համարը	Զարգացման սուբստրատի բնույթը	Մեկուսացման տարեթիվը
Արարատի մարզ, ք. Արտաշատ	850	9	առվույտի դիզոպլան	1999
Արարատի մարզ, ք. Սասիս	850	7	ցորենի սիզոսֆերա	1998
Արմավիրի մարզ, ք. Էջմիածին	900	68	ցորենի դիզոպլան	1997
Սևանի ավազան, գետ Արզիճի	1900	56	գետի ջուր	1986

Klebsiella sp. 9 կուլտուրան մեկուսացվել է *Azotobacter vinelandii* և երեք ուղեկցող բակտերիաներ պարունակող 99-9 ԱՄՀ-ից, *Klebsiella sp.* 68-ը *A. chroococcum* և երկու այլ բակտերիաներից բաղկացած 97-68 ԱՄՀ-ից, *Klebsiella sp.* 7-ը մեկ ուղեկցող բակտերիա պարունակող 98-7 ԱՄՀ-ից, իսկ *Klebsiella sp.* 56-ը Սևանա լճի մեջ թափվող Արզիճի գետի ջրից:

Ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ փորձարկված վերոհիշյալ չորս կուլտուրաները հիմնականում միանման մորֆոլոգիական, կուլտուրալ և ֆիզիոլոգո-բիոքիմիական առանձնահատկություններով են օժտված: Բերվածից էլենելով նպատակահարմար ենթ գտնում ներկայացնել միայն *Klebsiella sp.* 56-ի հիմնական հատկությունները:

Klebsiella sp. բակտերիայի բջիջները անշարժ ծողեր են $2.5 \times 0.6-0.8$ (1.2) μ մեծությամբ, առաջացնում են պատիճ: Գաղութներն էլքիի սննդամիջավայրում կլոր են, 4-7 մմ, երբեմն ավելի խոշոր, ուռուցիկ, հարթ մակերևույթով ու եզրերով, դեղնավուն, փայլուն: Առաջացնում է ջրում լուծվող կանաչ պիգմենտ, որի հետևանքով սննդամիջավայրը հետագայում ձեռք է բերում շագանակագույն երանգ: Կախված զարգացման պայմաններից տարբեր ակտիվությամբ տարալուծում են կապիճը: ՄՊՍ-ում գաղութները միջին մեծության են, կլոր, տափակ, հարթ մակերեսով, ալիքավոր եզրերով, սպիտակավուն, փայլուն: Զարգանում է 3-35°-ում, pH 5-ում և 2% NaCl պարունակող սննդամիջավայրում: Օսլան, կազեինը և ժելատինը չի հիդրոլիզում: Առաջացնում է դիհիդրոօքսիպացետոն, ացետիլմեթիլկարբիմոլ, նիտրատները թույլ է վերականգնում (որն ի հայտ չի եկել մյուս կուլտուրաների մոտ): Օգտագործում է ցիտրատը: Առաջացնում է ինդոլ, գլյուկոզան, արաբինոզան, քսիլոզան և մանիտ օգտագործելիս առաջացնում է թթու: Սերոք պայմաններում ինչպես *Klebsiella sp.* 56-ը, այնպես էլ փորձարկված մյուս երեք կուլտուրաները ազոտ չեն ֆիքսում: Չնայած դրան միկրոաներոֆիլ,

կամ անաերոբ պայմաններում *Klebsiella sp.* 56-ը, ի տարբերություն նախկինում մեր կողմից ուսումնասիրված *Klebsiella* ցեղի որոշ դիագնոստիկների [4]։ պահպանել է իր զարգացումն ու ազոտի ֆիքսման մեծ ակտիվությունը լաբորատոր պայմաններում, տասնվեց տարիների ընթացքում։ Փորձերը ցույց են տվել նաև, որ *A. chroococcum*-ը *Klebsiella sp.* 56-ի հետ համատեղ զարգացման պայմաններում սննդամիջավայրում ավելի շատ ազոտ են ֆիքսում, քան այդ կուլտուրաներն առանձին զարգանալիս (աղ. 2)։ Հետաքրքիր է նշել, որ բույսերի արմատային զոնայի ԱՄՀ-ների կազմի ուսումնասիրությունների ընթացքում հաճախակի նկատվել է *Azotobacter*-ի և *Klebsiella*-ի համատեղ զարգացման փաստը։

Աղյուսակ 2 Ազոտի ֆիքսման ակտիվության խթանումը *Klebsiella sp.* 56-ի և ազոտոբակտերի համատեղ աճեցողության պայմաններում (n=3)

Փորձի տարբերակները	Պենիցիլինի սրվակներում ֆիքսված ազոտը մգ/ 9 օրում
<i>A. chroococcum</i> B- 6111	0.42±0.01
<i>Klebsiella sp.</i> 56	0.30±0.02
<i>A. chroococcum</i> B-6111 + <i>Klebsiella sp.</i> 56	0.47±0.00
<i>A. throococcum</i> C6	0.36±0.01
<i>A. chroococcum</i> C6 + <i>Klebsiella sp.</i> 56	0.42±0.01
<i>A. chroococcum</i> T25	0.28±0.02
<i>A. chroococcum</i> T25 + <i>Klebsiella sp.</i> 56	0.46±0.02

Ներկայացված առանձնահատկություններից բացի պարզվել է, որ *Klebsiella sp.* 56-ը և փորձարկված մյուս երեք կուլտուրաներն օժտված են ինչպես հանքայնացնելու ֆոսֆորի օրգանական միացությունները, այնպես էլ անլուծելի հանքային միացությունները դարձնելու լուծելի։ Նրանք օժտված են նաև պեկտինը որպես ածխածնի միակ աղբյուր օգտագործելու հատկությամբ։ *Klebsiella sp.* 56 կուլտուրան իր մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգո-բիոքիմիական որոշ առանձնահատկություններով հատկապես բջիջների մեծությամբ, կանաչ լուծելի պիգմենտ առաջացնելու հատկությամբ և ազոտ ֆիքսելու ունակությամբ մոտ է Կրասիլնիկովի և Կալինինսկայայի նկարագրած *Azotomonas fluorescens* տեսակին [1]։ Սակայն, ի տարբերություն վերջինիս, մեր կուլտուրան անշարժ է, առաջացնում է պատիճ և, ամենակարևորը, անաերոբ պայմաններում ազոտ չի ֆիքսում։ Չնայած իր հիմնական հատկանիշներով *Klebsiella sp.* 56-ը համապատասխանում է Բերգեի որոշիչներում նկարագրված *Klebsiella* ցեղին, սակայն զգալիորեն տարբերվում է դրանցում նկարագրված այդ ցեղին պատկանող տեսակներից։ Հավանաբար պետք է հետևեցնել, որ ուսումնասիրված կուլտուրան իրոք *Klebsiella* ցեղի նոր տեսակ է։

Հաշվի առնելով ուսումնասիրված կուլտուրաների Հայաստանի տարբեր վայրերում զարգանալու ունակությունը, ֆոսֆորի անլուծելի միացությունները մատչելի դարձնելու հատկությունը և հատկապես ԱՄՀ-ում ազոտի ֆիքսման ակտիվության խթանմանը, կարելի է հետևեցնել, որ նկարագրված կուլտուրաները, զարգանալով բույսերի արմատային զոնայում, կարող են զգալիորեն նպաստել դրանց աճեցողությանը։

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Калининская Т.А.* Автореф. канд. дисс. М., 1954.
2. *Мишустин Е.Н., Шильникова В.К.* Биологическая фиксация атмосферного азота, М., Наука, 325с., 1968.
3. *Никогосян В.Г.* Биолог. журн. Армении, 34, 3, 269-274, 1981.
4. *Никогосян В.Г.* Биолог. журн. Армении, 49, 1-2. 51-53, 1996.
5. Определитель бактерии Берджи, 1. М., Мир, 432с., 1997.
6. *Плохинский Н.А.* Математические методы в биологии, М., Изд. МГУ, 1986.
7. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore, London, 1, 1984.
8. *Hurd, R.W., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C.* Plant Physiol. 43, 1185-1207, 1968.

Поступила 12.VI.2006